

Helsinki 10.1.2005

ETUOIKEUSTODISTUS  
PRIORITY DOCUMENT



Hakija  
Applicant

Licentia Oy  
Helsinki

Patenttihakemus nro  
Patent application no

20031658

Tekemispäivä  
Filing date

14.11.2003

Kansainvälinen luokka  
International class

G01N

Keksinnön nimitys  
Title of invention

"Menetelmä ja laitteisto näytteiden tutkimiseksi massaspektrometrisesti"

Täten todistetaan, että oheiset asiakirjat ovat tarkkoja jäljennöksiä Patentti- ja rekisterihallitukselle alkuaan annetuista selityksestä, patenttivaatimuksista, tiivistelmästä ja piirustuksista.

This is to certify that the annexed documents are true copies of the description, claims, abstract and drawings originally filed with the Finnish Patent Office.

Marketta Tehikoski  
Apulaistarkastaja

Maksu 50 €  
Fee 50 EUR

**BEST AVAILABLE COPY**

Maksu perustuu kauppa- ja teollisuusministeriön antamaan asetukseen 1027/2001 Patentti- ja rekisterihallituksen maksullisista suoritteista muutoksineen.

The fee is based on the Decree with amendments of the Ministry of Trade and Industry No. 1027/2001 concerning the chargeable services of the National Board of Patents and Registration of Finland.

Osoite: Arkadiankatu 6 A Puhelin: 09 6939 500 Telefax: 09 6939 5328  
P.O.Box 1160 Telephone: + 358 9 6939 500 Telefax: + 358 9 6939 5328  
FIN-00101 Helsinki, FINLAND

## Menetelmä ja laitteisto näytteiden tutkimiseksi massaspektrometrisesti

- 5 Esillä oleva keksintö koskee patenttivaatimuksen 1 johdannon mukaista menetelmä näytteen tutkimiseksi massaspektrometrisesti.

Tällaisen menetelmän mukaan tutkittavaa näytettä sisältävä liuos höyrystetään ja höyrystetty näyteliuos suihkutetaan kaasuvirtauksen avulla koronapurkausneulan  
10 läheisyyteen, jossa tutkittava näyte ionisoidaan. Varatut partikkelit erotellaan ja ohjataan sähkö- ja/tai magneettikenttien avulla detektoriin.

Keksintö koskee myös patenttivaatimuksen 14 johdannon mukaista laitetta sekä patenttivaatimuksen 23 mukaista käyttöä.

15

Massaspektrometriaa hyödynnetään monella tieteiden alalla, kuten lääketutkimuksessa, genetiikassa, ympäristöanalyysissä ja hiukkastutkimuksessa. Massaspektrometriassa (seuraavassa myös lyhennettynä "MS":ssä) ainetta tutkitaan sen massasta saatavan  
informaation perusteella, ja MS:n avulla voidaan mm. tunnistaa kemiallisen näytteen  
20 sisältämät yhdisteet sekä määrittää niiden määrä ( $< 10^{-11}$  M) hyvin pieninä pitoisuuksina monimutkaisista näytematriiseista.

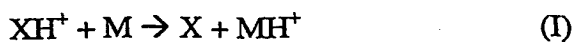
Tyypillisesti tutkittava näyte ionisoidaan massaspektrometrin ionisaattorissa kaasumaiseen muotoon ja muodostuneet kaasufaasi-ionit erotellaan niiden massa/varaus-suhteen ( $m/z$ )  
25 perusteella sähkö- ja/tai magneettikenttien (massa-analysaattorin) avulla. Kaasufaasi-ionit havainnoidaan detektorilla. Massaspekttri saadaan tulostamalla detektorin muodostaman ionivirran voimakkuus ionin  $m/z$  arvon funktiona.

Nestemäisen näytteiden ionisoinnissa on yleisimmin käytetty elektrospray-ionisaatiota  
30 (ESI), jossa polaariseen liuottimeen, esim. metanoliin, liuotettu näyte ajetaan ohuen neulamaisen kapillaariputken kautta massaspektrometriin. Kun kapillaari asetetaan korkeaan jännitteeseen (3-5 kV), muodostuu kapillaarin kärkeen voimakas sähköstaattinen kenttä, jonka vaikutuksesta kapillaarista ulostulevasta liuoksesta muodostuu kaasufaasiin varautunut aerosoli. Aerosolin varautuneet pisarat emittoivat kaasufaasiin kaasufaasi-  
35 ioneja, jotka kerätään erillisen ilmanpaineionilähteen avulla massa-analysaattoriin. ESI:ssä

ionisaatio tapahtuu normaalipaineessa ja se soveltuu suurienkin (MW > 100 kDa) molekyylien tutkimiseen.

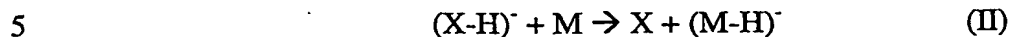
- Atmospheric Pressure Chemical Ionization –menetelmässä (APCI:ssa) eluentti ajetaan ohuen teräskapillaarin läpi, joka on asennettu suuremman teräsputken sisään. Putkien välistä ajetaan sumutuskaasua, jonka avustuksella eluentti sumuttuu. Muodostunut aerosolisumu johdetaan kuumennetun kvartsiputken läpi, jossa liuotin ja tutkittavat yhdisteet höyrystyvät. Muodostunut höyry ionisoidaan koronapurkauselektrodilla, johon on kytketty korkea jännite (3-5 kV). Sähköpurkauksen seurauksen tutkittava yhdiste ionisoituu kaasufaasissa.
- 10 Muodostuneet ionit kerätään massa-analyysiin API-lähetten avulla. Menetelmä soveltuu myös neutraalimolekyyleille päinvastoin kuin sähkösumutus. APCI:ssa eluenttina voidaan käyttää niin polaarisia kuin poolittomiakin liottimia, kun taas ESI:ssä voidaan käyttää vain polaarisia liuottimia.
- 15 Oheen liitettyssä kuviossa 1 on lähemmin havainnollistettu APCI-ionisaation periaatetta. Korkeaan potentiaaliin kytketyn elektrodin (neulan) kärjen läheisyydessä sähkökentän voimakkuus ylittää ilman koronapurkauskynnyksen, jolloin ilmassa olevat molekyylit (esim. N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>) ionisoituvat ns. primääri-ioneiksi (N<sub>2</sub><sup>+</sup>, O<sub>2</sub><sup>+</sup>). Primääri-ionit reagoivat liuotinmolekyylien (esim. H<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>OH, NH<sub>3</sub>) kanssa muodostaen ns. reagenssi-ioneja (esim. H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, CH<sub>3</sub>OH<sub>2</sub><sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Reagenssi-ionit reagoivat näytemolekyylien kanssa muodostaen protonoituneita ([M+H<sup>+</sup>]) (tai deprotonoituneita [M-H]<sup>-</sup>) molekyylejä, jotka voidaan analysoida massasektrometrisesti.
- 20 APCI-ionisaatio suoritetaan näytteen mukaan joko ns. positiivi- tai negatiivimoodissa. Positiivimoodissa neulapotentiaali on korkeampi verholevyyn nähden ja ionisaatio tapahtuu tavallisimmin protoninn siirtoreaktiolla. Protonin siirto tapahtuu kaavan I mukaisesti, jos näytemolekyylin protoniaffiniteetti on korkeampi kuin reagenssikaasun protoniaffiniteetti:

30



Negatiivimoodissa neulapotentiaali on matalampi verholevyyn nähden ja ionisaatio tapahtuu deprotonaatiolla (II) tai elektronin siirrolla (III). Deprotonaatiossa reagenssi-

molekyylillä on näytemolekyyliä suurempi protoniaffiniteetti. Elektronin siirrossa plasmassa syntyneet elektronit reagoivat korkean elektroniaffiniteetin omaavien näytemolekyylien kanssa.



10 Tavallisimmin käytettyjä liuottimia ovat metanolin ( $CH_3OH$ ) tai asetonitriliin ( $CH_3CN$ ) vesiseokset. Protonoitumista tai deprotonoitumista voidaan tehostaa lisäämällä liuottimeen pieniä määriä lisäaineita. Esim. positiivimoodissa voidaan käyttää ammoniumasetaattia ( $CH_3COONH_4$ ) ja negatiivimoodissa etikkahappoa ( $CH_3COOH$ ) ja muurahaishappoa ( $HCOOH$ ).

15 Koska tutkittavat yhdisteet saatetaan kaasufaasiin kuumennuksen avulla, yhdiste fragmentoituu enemmän kuin ESI:ssa. Koska kuumennus tapahtuu hyvin nopeasti, yhdiste ei useinkaan fragmentoidu täydellisesti ja spektrissä havaitaan protonoitunut tai deprotonoitunut molekyyli. Lämmitysteho optimoidaan erikseen käytettävän liuottimen/näytteen mukaan. Tavallisesti kapillaarin sisäpinnan lämpötila on  $100 - 150\text{ }^{\circ}C$ .  
20 Tehokkaan sumutuksen aikaansaaminen vaatii korkean sumutuskaasun virtauksen, joka on noin  $2\text{ l/min}$ . APCI-ionisaatiossa ionien varausluku on tavallisesti yksi, minkä perusteella voidaan määrittää yhdisteen molekyylipaino. Muodostuneiden fragmenttien perusteella voidaan saada informaatiota molekyylin rakenteesta.

25 Analyytin syöttö APCI-ionisaattorille tapahtuu ruisku- tai HPLC (High Performance Liquid Chromatography) -pumpun avulla. Pumpun avulla virtaus voidaan säätää tarkasti hyvin pieniäkin nestemääriä varten. Tavanomaisessa APCI:ssa nestevirtaus on tavallisesti luokkaa  $0,2 - 1\text{ ml/min}$ . Kaasuvirtaus on tätä selvästi suurempi, yleensä luokkaa  $2\text{ l/min}$ . Parhaiten APCI soveltuu maksimissaan muutaman tuhannen Da:n molekyyliden  
30 ionisointiin.

Koronapurkauksen edellytyksenä on, että sähkökentän voimakkuus ylittää ns. koronakynnysarvon. Jotta välttyttäisiin varauksen läpilyönniltä, sähkökentän on oltava erittäin epähomogeeninen. Epähomogeeninen sähkökenttä saadaan aikaan esim. terävällä

neulamaisella elektrodilla. Tällöin suurin sähkökentän arvo sijoittuu neulan kärjen ympäristöön.

5 APCI soveltuu ESI:iä paremmin neutraaliyhdisteiden analysointiin. APCI:ssä voidaan käyttää sekä polaarisia että poolittomia liuottimia, kun taas ESI:ssä voidaan käyttää vain polaarisia. Korkeat puskuri- tai lisäainepitoisuudet häiritsevät ionisoitumista selvästi enemmän ESI:ssa kuin APCI:ssa. APCI:n huono puoli on, että tarvittavat näyte- ja virtausnopeudet ovat varsin suuria. APCI sopii vain virtausnopeuksille, jotka ovat suurempia kuin 100  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Tästä syystä tavanomaisia APCI-laitteita ei voida käyttää  
10 esim. mikrofluidistiikkajärjestelmissä. Perinteisten APCI-laitteiden herkkyys ei myöskään ole riittävän hyvä pienille näytemäärille.

Tunnettujen laitteiden epäkohtia ovat myös suhteellisen korkeat valmistus- ja käyttö-  
15 kustannukset. Jälkimmäisiin sisältyvät esim. laitteistojen puhdistuksesta aiheutuva runsas ajankäyttö.

Esillä olevan keksinnön tarkoituksena on poistaa tunnettuun tekniikkaan liittyviä epäkohtia ja saada aikaan aivan uudenlainen tapa tutkia kaasu- ja nestefaasissa olevia näytteitä massaspektrometrisesti. Etenkin keksinnön tarkoituksena on saada aikaan APCI-  
20 ionilähteen pohjalta toimiva ratkaisu, joka soveltuu nykyisiä laitteita paremmin pienten näytemäärien analysointiin. Keksinnön tarkoituksena on myös parantaa APCI-laitteen herkkyyttä sekä lämmönsiirtoa höyrystimen sisällä. Keksinnön tavoitteena on edelleen APCI-laitteiston valmistus- ja käyttökustannusten vähentäminen.

25 Keksintö perustuu siihen ajatukseen, että pienten näytemäärien analysointiin sopiva APCI-ionisaattori toteutetaan mikromekaanisesti. Ennestään tunnetaan mikronoituja ESI-ratkaisuja, joissa monoliittiseen, pieneen lasilevyyn on työstetty virtauskanavat näyte-liuokselle sekä ionisointiin käytettävä suihkutuskärki. Seuraavassa näitä laitteita kutsutaan myös "ESI-mikrochipeiksi" tai " $\mu$ -ESI-laitteiksi"). Tunnetun tekniikan osalta viittaamme  
30 US-patenttijulkaisuihin 6 481 648 ja 6 245 227. Kuten ESI-tekniikka yleensä, nämä mikronoidut laitteet sopivat ionimaisille yhdisteille, mutta eivät neutraaleille ja polaarittomille yhdisteille, jotka eivät ole ionisoitavissa ESI:llä tai joiden kohdalla ionisoinnin tehokkuus on liian heikko.

Tunnettujen ESI-mikrochippien epäkohtana mikronoituina laitteina on edelleen se, että korkean jännitteen omaava sähkökenttä on keskittynyt  $\mu$ -ESI-laitteen kärkeen, eli mikrofluidijärjestelmän poistoaukkoon, ja tämä kärki tuhoutuu nopeasti, mikä rajoittaa  $\mu$ -ESI käyttöikää ja estää vakaiden ja stabiilien analyysien aikaansaamisen. Lisäksi ESI-suihkuttimen kärjessä tapahtuvat hapetus- ja pelkitysreaktiot johtavat kärjen tukkeutumiseen ja kuplien muodostumiseen.

Keksinnön yhteydessä on havaittu, että mikronointitekniikka soveltuu edellä mainittuja ESI-ratkaisuja huomattavasti paremmin toteutettavaksi APCI-tekniikan ionisaattorille.

10 Keksinnön mukaan APCI-ionisaattorille tyypilliset laiteosat, ainakin kaasujen ja nesteen virtauskanavistot sekä höyrystimen kuumennin, sisällytetään monoliittiseen rakenteeseen, jossa virtauskanavistot mitoitetaan sellaisiksi, että niiden läpi kulkeva nestevirta on suuruudeltaan pienempi kuin noin 100  $\mu$ l/min.

15 Koska  $\mu$ -APCI:ssä korkean jännitteen omaava sähkökenttä on kohdistunut koronapurkausneulan kärkeen eikä mikrofluidijärjestelmän poistoon, tämä ei ole altis tuhoutumiselle ja samalla saadaan aikaan vakaa ja stabiili analyysi.

Keksinnön mukaista laitetta käyttämällä voidaan höyrystää pieniäkin näytemääriä ja ionisoida ne sellaisessa koronapurkausvyöhykkeessä, esim. koronapurkausneulassa, joka on muodostettu osaksi mikrochipiä tai joka on järjestetty mikrochipin yhteyteen.

Täsmällisemmin sanottuna keksinnön mukaiselle menetelmälle on pääasiallisesti tunnusomaista se, mikä on esitetty patenttivaatimuksen 1 tunnusmerkkiosassa.

25 Keksinnön mukaiselle laitteistolle on puolestaan tunnusomaista se, mikä on esitetty patenttivaatimuksen 14 tunnusmerkkiosassa.

Keksinnön mukainen käyttö on määritelty patenttivaatimuksessa 23.

30 Keksinnön mukaisella ratkaisulla saavutetaan huomattavia etuja. Niinpä laitteen valmistusprosessi on riittävän yksinkertainen, että se on mahdollista toteuttaa järkevällä saannolla.

- Keksintö saa aikaan uuden rajapinnan minkä tahansa mikrofluidityyppisen tai muun tyyppisen mikroanalyyttisen järjestelmän ja massaspektrometrin välillä. Laitetta voidaan käyttää etenkin pienillä virtauksen määrillä (alle 5  $\mu\text{l}/\text{min}$ ) mutta se sopii myös virtausmäärille, jotka ovat jopa noin 100  $\mu\text{L}$ . Keksinnön tärkeimpiä käyttöaloja ovat
- 5 bioanalyysit, lääkeaineanalyysit, huumeanalyysit, ympäristömyrkkyjen analyysit, elintarvikeanalyysit, kliiniset analyysit ja diagnostiikka. Menetelmä ja laitteisto soveltuvat erityisen hyvin tapauksiin, jossa tarvitaan suuren herkkyuden omaavaa analyysitekniikkaa tai jossa käytössä olevan näytteen määrä on erittäin pieni (pienempi kuin 1  $\mu\text{L}$ ).
  - 10 Keksintöä voidaan soveltaa monenlaisten yhdisteiden analyysiin. Se sopii niin polaarille kuin polaarittomille yhdisteille sekä neutraaleilla yhdisteille ja ionisille yhdisteille. Analysoitavissa ovat periaatteessa kaikki yhdisteet, jotka sisältävät funktionaalisen kohdan, kuten funktionaalisen ryhmän, joka voidaan protonoida. Esimerkkeinä erityisen mielenkiintoisista sovelluksista mainittakoon lievästi polaariset, luokitukseltaan
  - 15 poolittomat yhdisteet, joiden pitoisuudet näytteissä ovat erittäin pieniä. Näitä ovat esim. erilaiset steroidit, kuten neurosteroidit, jotka sisältävät ainakin yhden hydroksi- tai vastaavasti ketoryhmän. Tällaisten yhdisteiden määrät ovat biologisissa näytteissä luokkaa 10 – 100 pikogrammaa millilitrassa. Näiden lisäksi keksinnöllä voidaan analysoida myös emäksisiä typpiyhdisteitä, jotka tunnetusti esim. muodostavat pääosan kaikista
  - 20 farmakologisesti aktiivisista aineista.
- Ratkaisua voidaankin käyttää sekä neste- että kaasufaasissa olevien näytteiden analysointiin. Näytteen liuottamiseen käytettävä eluentti voi olla polaarinen ja/tai polaariton liuotin.
- 25 Keksinnön mukainen mikro-APCI-tekniikka on erityisen käyttökelpoinen yhdisteille, jotka ovat höyrystettävissä ja joiden moolimassat ovat korkeintaan 2000 Da, sopivimmin korkeintaan 1000 Da.
  - 30 Mikro-ESI-tekniikkaan verrattuna  $\mu$ -APCI saa aikaan paremman herkkyuden polaarittomien ja neutraalien yhdisteiden analyysille. Analyysissa voidaan käyttää polaarittomia eluenteja ja voidaan haluttaessa analysoida jopa kaasufaasinäytteitä

Tavanomaiseen APCI-tekniikkaan verrattuna keksinnöllä saavutetaan myös huomattavia etuja. Niinpä virtausnopeudet ovat nanolitroista muutamaan kymmeneen mikrolitraan, kun taas tavanomainen APCI sopii vain virtausnopeuksille, jotka ovat suurempia kuin 100  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Keksin­nöllä voidaan analysoida pienempiä näytetilavuuksia ja laitteiston herkkyyys on tavanomaista APCI:ia huomattavasti parempi. Lisäksi lämmönsiirtoa ja höyrystymistä on parannettu.

Tuotantokustannuksiltaan  $\mu$ -APCI on merkittävästi halvempi kuin tavanomainen APCI. Tästä syystä keksintö mahdollistaa periaatteessa kertakäyttöisen höyrystin/ionisaattori-laitteen valmistuksen, jolloin käytetty laite voidaan korvata kokonaan uudella laitteella, kun se on likainen. Tämä vähentää merkittävästi MS-laitteiston puhdistamiseen tarvittavaa aikaa.

Keksintöä ryhdytään seuraavassa lähemmin tarkastelemaan yksityiskohtaisen kuvauksen avulla oheisiin piirustuksiin viitaten, jolloin kuviossa 1 on esitetty lohkokaa­vio massaspektrometrilaitteiston osakokonaisuuksista, kuviossa 2 on esitetty APCI-ionisaation perusratkaisun periaatekuva, kuviossa 3 on esitetty keksinnön mukaisen laitteen kahden vaihtoehtoisen sovellutusmuodon rakenteet yksinkertaistettuina ylä- ja vastaavasti sivukuvantoina, kuviossa 4 on esitetty kuviossa 3 kuvattujen rakenteiden chippikonfiguraatioiden planaarisella neulalla modifioituja versioita ja kuviossa 5 on esitetty yksinkertaistettuina ylä- ja vastaavasti sivukuvantona kolmedimensionaalisella neulalla varustettu mikrochip.

Mikroelektromekaanisella systeemillä (MEMS/MST) tarkoitetaan tekniikassa yleisesti järjestelmää, jossa samalle mikrochipille (tyypillinen kokoluokka  $1\text{ mm}^2 - 10\text{ cm}^2$ ) on integroitu mikromekaanisia ja mikroelektronisia rakenteita. Mikromekaaniset rakenteet (dimensiot luokkaa  $0,1\mu\text{m} - 1\text{ mm}$ ) voidaan tunnetusti valmistaa substraattikiekkoa etsaamalla (bulk-mikromekaniikka) tai substraattikiekon pintaan kasvatettuja ohutkalvoja kuvioimalla (pintamikromekaniikka). Mikromekaniikassa tavallisesti käytettyjä substraattimateriaaleja ovat pii, lasi, GaAs, kvartsi ja muovit. Ohutkalvoina (paksuudet luokkaa  $1\text{ nm} - 1\text{ mm}$ ) käytetään esim. piidioksidia, piinitridiä, amorfista/monikiteistä piitä, metalleja sekä polymeerejä.



Esillä olevassa keksinnössä käytetään mikronoidusta rakenteesta yksinkertaisuuden vuoksi nimitystä ”mikromekaaninen rakenne”, millä tarkoitetaan substraattilevyille/levyille valmistettua kokonaisuutta (kooltaan noin  $1 \text{ mm}^2 - 10 \text{ cm}^2$ ), joka sisältää komponentin toiminnalle oleellisia rakenteita, kuten kanavia ja vastuksia.

5

Keksinnön mukaisessa menetelmässä tutkittavaa näytettä sisältävä liuos höyrytetään höyrytimessä, joka on toteutettu mikromekaanisena rakenteena. Höyrystin käsittää monoliittisen kappaleen, johon on muodostettu ainakin näyteliuoksen virtauskanavat, mahdollisesti käytettävän kantokaasun virtauskanavat sekä näyteliuoksen kuumennin.

10

Saatu höyrystetty näyteliuos suihkutetaan kaasuvirtauksen avulla koronapurkausvyöhykkeeseen, jossa tutkittava näyte ionisoidaan koronapurkauksen avulla kaasufaasi-ionien tuottamiseksi, minkä jälkeen ionit erotellaan ja ohjataan detektoriin sinänsä tunnetulla tavalla esim. sähkö- ja/tai magneettikenttien avulla.

15

”Monoliittisella” kappaleella tarkoitetaan tässä keksinnössä kappaletta, joka koostuu yhdestä ainoasta osasta tai joka on muodostettu kahdesta tai useammasta osasta, jotka on saumattu yhteen yhdeksi kappaleeksi niin kiinteästi käytetyn bondaus-tekniikan avulla, että osat eivät periaatteessa enää ole irrotettavissa toisistaan olennaisesti osia rikkomatta.

20

Keksinnön edullisen sovelluksen mukaan käytetään mikromekaanista rakennetta, joka käsittää substraattikiekon tai useammasta kiekosta yhteen liitetyn kiekkopinon, johon on muodostettu kaasujen ja nesteen virtauskanavistot sekä näyteliuoksen höyryttämiseen käytettävä kuumennin. Monoliittinen kappale on tällöin muodostettu kahdesta tai useammasta kappaleesta, jotka on liitetty toisiinsa. Tällainen kappale voi käsittää

25

keskenään samanlaiset tai erilaiset kappaleet, jotka ovat esim. lasia tai piitä. Kaasujen ja nesteen virtauskanavistot syöttöaukkoineen ja höyrytimen kuumennin voidaan tällöin muodostaa samaa osaan tai eri osiin, jotka tulevat vastakkain. Kappale voi esim. käsittää lasilevyn, johon on muodostettu kaasujen ja nesteen virtauskanavistot, ja piikiekon, johon on muodostettu näyteliuoksen höyryttämiseen käytettävä kuumennin. Tai rakenne voi olla

30

päinvastainen.

Keksinnön mukaan virtauskanavistot on mitoitettu sellaisiksi, että niiden läpi kulkeva nestevirta on suuruudeltaan alle  $100 \mu\text{l}/\text{min}$ , sopivimmin korkeintaan noin  $50 \mu\text{l}/\text{min}$ , etenkin korkeintaan noin  $10 \mu\text{l}/\text{min}$ . Yleisesti kanavien koko vaihtelee sen mukaan, onko

niiden läpi virtaava aine kaasua vai nestettä. Tyypillinen kaasunsyöttökanavan koko (poikkileikkauksen leveys tai syvyys) on noin 10 – 1000  $\mu\text{m}$ , etenkin noin 20 - 500  $\mu\text{m}$ , ja vastaavasti nesteensyöttökanavan vastaava koko noin 5 – 500  $\mu\text{m}$ , etenkin noin 10 – 250  $\mu\text{m}$ , vaikka nämä eivät ole mitään rajoittavia mittoja. Kanavien syvyys on yleensä

5 korkeutta pienempi, jolloin syvyys on yleensä alle 200  $\mu\text{m}$ . Jos kanavien poikkileikkaus on ympyrän muotoinen, niiden halkaisija on tyypillisesti yllä mainitulla yleisellä alueella.

Keksinnön mukainen höyrystin sisältää erään sovellutusmuodon mukaan sekä höyrystysvyöhykkeen että koronapurkausvyöhykkeen, jotka on integroitu yhteen mikromekaaniseen rakenteeseen. On kuitenkin mahdollista valmistaa koronapurkausvyöhyke erilliseksi

10 laiteosaksi.

Laitteessa höyrystetty näyteliuos ionisoidaan APCI-menetelmän mukaisesti koronapurkauksella ilman läsnä ollessa. Sopivimmin toimitaan normaali-ilmanpaineessa.

15 Tyypillisesti koronapurkausvyöhyke käsittää neulamaisen elektrodin, joka on kytketty niin korkeaan potentiaaliin suhteessa massaspektrometrin verholevyyn, että sähkökentän voimakkuus ainakin elektrodin kärjen välittömässä läheisyydessä ylittää ilman koronapurkauskynnyksen. Neulamaisen elektrodin potentiaali suhteessa verholevyyn on esim. ainakin 1 kV ja maksimisähkökenttä elektrodin kärjen tuntumassa on noin 50 kV/mm.

20 Oheisessa kuviossa 3 on esitetty kaksi keksinnön sovellutusmuotoa. Kuten kuviosta käy ilmi, keksinnön mukainen laite voidaan esim. toteuttaa kahden eri konfiguraation mukaisena, nimittäin vaakamallisena (kuvio 3a) ja pystymallisena (kuvio 3b). Vaakamallissa chippi (ja näin olen neula ja virtauksen ulostuloaukko) on kohtisuorassa massaspektrometrin verholevyn suhteen ja pystymallissa taas yhdensuuntainen tämän kanssa.

25

Kuviossa 3a on esitetty vaakamallisen  $\mu$ -APCI-ionilähteen rakenne. Kuten sivukuvannosta käy ilmi, laite käsittää lasilevyn 1, jonka päälle on järjestetty piikiekkoon 2. Piikiekkoon 2 on työstetty syöttöaukot 3 nesteelle ja vastaavasti kaasulle 4. Piikiekkoon on edelleen

30 järjestetty sekoitusvyöhyke 5, johon nesteen ja vastaavasti kaasun syöttöaukot 3, 4 on yhdistetty syöttöputkistojen 6, 7 kautta. Sekoitusvyöhyke käsittää esim. kapillaarisen putken, joka on järjestetty piikiekkoon ja joka on varustettu lämmitysvastuksella 8, jonka avulla kapillaariin syötettävät ja siinä sekoittuvat neste- ja kaasuvirrat voidaan lämmittää

nesteen höyrystämiseksi. Lämmitysvastukseen 8 on liitetty sähköjohtimet 9, joiden toisessa päässä, lasilevyn pinnassa on kontaktielektrodit 10, joihin sähkölähte on yhdistettävissä.

5 Kuvion 3a laitteessa koronapurkauksen tuottava elektrodineula 11 on järjestetty samansuuntaiseksi lasilevyn 1 ja kapillaariputken 5 kanssa. Elektrodineula 11 on myös liitetty sähköjohtimien kautta kontaktielektrodeihin 13. Kapillaariputken poistopäässä on suutin 12, josta elektrodineulasta 11 saatava, ionisoitu kaasusuihke on poistettavissa laitteesta ja johdettavissa massaspektrometriin ilmaistavaksi.

10 Kuvion 3b mukainen laite vastaa perusrakenteeltaan kuvion 3a laitetta. Niinpä siinä on lasilevy 21, jonka päällä on piikiekkko 22. Tässä tapauksessa nesteen ja kaasun syöttöaukot 23, 24 on kuitenkin järjestetty lasilevyyn. Piikiekkoon on työstetty sekoitusvyöhyke 25, johon kaasu ja vastaavasti neste ovat johdettavissa syöttöputkistojensa kautta 26, 27. Laitteessa on sekoitusvyöhykettä (kapillaaria 25) ympäröivä kuumennin 28  
15 sähköjohtimineen 29 ja kontaktielektrodeineen 30. Elektrodineula 31 on sovitettu vaakasuuntaisena kohti sekoitusvyöhykkeen suutinta 32.

Kuvioissa 3a ja 3b esitetyt ionisaattorit voidaan valmistaa esim. etsaamalla kanavistot 5-7; 25 piikiekkoon anisotrooppisella märkäetsauksella. Metallinen planaarin neula 11; 31 ja kuumennin 8; 28 kuvioidaan lasikiekkoon, joka lopuksi kiinnitetään anodisella bondauksella piikiekkoon.

Tämän ratkaisun etuna ovat etsauksen ja bondauksen helppoudet.

25 Liittäminen voidaan suorittaa anodisen bondauksen lisäksi esimerkiksi lasifritti-, termokompressio- tai liimabondauksena, jolloin väliaineena voidaan käyttää tavanomaisia polymeeripohjaista liima-aineita. Näitä ovat esim. epoksi-polymeerit, negatiivi- ja positiiviresistit, polyimidi, PMMA, silikonit sekä fluoroelastomeerit.

30 Polymeeriliimaussauma ei tavallisesti ole hermeettinen eikä se kestä korkeita lämpötiloja, mutta toisaalta bondaus voidaan suorittaa alhaisessa lämpötilassa (polymeerin mukaan jopa alle 100°C) ja mitä erilaisimmille materiaaleille, mikä tekee siitä houkuttelevan vaihtoehdon esim. CMOS-prosesseissa. Liimabondausprosessi sisältää liitettävien kiekkojen/chippien huolellisen pesun ja kuivatuksen, adheesiopromootorin levityksen,

polymeerin spinnauksen /ruiskutuksen (paksuus esim. 1-20  $\mu\text{m}$ ) toiselle tai molemmille liitettäville pinnoille, prebake-lämpökäsittelyn (esim. 60 – 100  $^{\circ}\text{C}$ , 10 min), kiekkojen/chippien asettamisen vakuumikammiossa puristukseen sekä hardbake-lämpökäsittelyn (esim. 100 – 300  $^{\circ}\text{C}$ :ssa, 5 min).

5

Keksintö voidaan myös toteuttaa kokonaan lasisena, millä ratkaisulla voidaan entisestään parantaa laitteen termisiä ja sähköisiä ominaisuuksia.

10

Valmistetuissa koelaitteistoissa kaasunsyöttökanavien leveys on ollut aina koelaitteiston mukaan 270, 320 tai 370  $\mu\text{m}$ . Neste-syöttökanavan leveys on puolestaan ollut 120, 130 tai 140  $\mu\text{m}$  ja sekoitus/kuumennus-kanavan leveys 1,27 mm. Syöttöaukkojen sivun pituus on ollut vaakamallissa 670  $\mu\text{m}$  ja pystymallissa lasin porausvaran takia lähes 2 mm. Kanavien syvyys on vaihdellut 85  $\mu\text{m}$ :sta 190  $\mu\text{m}$ :iin etsauksen anisotrooppisuudesta (kanavien kapeudesta) johtuen.

15

Planaarinen kuumennin ja neula voidaan kuvioda lasilevyyn 1; 21 sputteroituu, höyrystettyyn tai muulla tavalla kasvatettuun metallikerrokseen. Metallina voidaan käyttää jalometallia, kuten platinaa, tai jotain sähköä ja/tai lämpöä hyvin johtavaa epäjaloa metallia, kuten alumiinia, joka on riittävän inertti tutkittaville näyteliuoksille.

20

Kasvatettavan metallikerroksen paksuus on vapaasti valittavissa; kokeellisessa ratkaisussa valittiin paksuudeksi 300 nm, jolloin vaakamallisissa chipeissä resistanssi oli huoneenlämmössä luokkaa 85 – 90  $\Omega$  ja pystymallisessa luokkaa 43  $\Omega$ .

25

Elektrodineulan pituus on yleensä noin 0,5 – 10 mm, etenkin noin 1 – 6 mm. Koelaitteistot valmistettiin käyttämällä vaakamallisessa neulan pituutena 2 tai 3 mm ja pystymallisissa 2 tai 2,5 mm.

30

Kontaktielektrodien kohdalta piitä voidaan ohentaa etsaamalla, jotta ne saisi esille piilaserajapinnasta. Piin läpietsaaminen näiltä kohdilta ei ole edullista, koska kiekon fyysinen kestävyys (bondausta ajatellen) voi siitä kärsiä. Kolmiulotteinen mikroneula poistaa edellä mainittuun ongelmaan liittyvät epäkohdat koska tällöin ionisoituvaa kaasua olisi runsaasti neulan kärjen välittömässä läheisyydessä. Ionilähteen miniatyrisoinnin ansiosta pienten näytemäärien (virtaukset luokkaa  $\mu\text{l}/\text{min}$ ) analysointi helpottuu ja mittausherkkyyys paranee.

Seuraavassa esitetään käytännön esimerkki esillä olevien ionisaattorien valmistusprosessista:

- 5 Chipin piisubstraatiksi valittiin 380  $\mu\text{m}$  paksu kaksipuoleisesti kiillotettu n-tyypin (100)-kiekko. Prototyyppien valmistamisessa käytettiin korkearesistiivisiä ( $>500 \Omega\text{cm}$ ) kiekkoja kuumentimen vuotovirran pienentämiseksi. Chippikantena käytettiin 0,5 mm paksua Corningin Pyrex 7740 -tyypin lasikiekkoa, joka voidaan bondata piihin anodisesti.
- 10 Valmistusprosessi alkoi piikiekkojen RCA-pesulla. Orgaaninen kontaminaatio poistettiin RCA-1 -pesulla ja metallinen kontaminaatio RCA-2 -pesulla. Pesujen välissä suoritettiin HF-dippi. Pesujen jälkeen piikiekoille kasvatettiin noin 600 nm terminen oksidi märkä-oksidoitintiprosessilla. Oksidoitujen kiekkojen päälle höyrystettiin resistin adheesiota parantava HMDS-kerros, minkä jälkeen kiekkoille spinnattiin 1,4  $\mu\text{m}$ :n fotoresisti (AZ
- 15 5214). Esipaiston jälkeen resisti valotettiin maski 1:n läpi. Kehityksen ja jälkipaiston jälkeen oli vuorossa oksidin etsaus kanava-alueilta. Oksidin etsauksen jälkeen resisti poistettiin asetonilla ja isopropanolilla.

- 20 Kun kanava-alueet oli saatu kuvioitua piikiekon etupuolelle, läpiviennit kuvioitiin kiekon takapuolelle. Takapuolen resistointi suoritettiin edellä esitetyn mukaisesti. Kaksipuoleisen kohdistuksen kohdistimena käytettiin Electronic Visions AL-6 -laitetta, jossa on mikroskoopit kiekon ylä- ja alapuolella. Kohdistuksen ja valotuksen jälkeen suoritettiin jälleen kehitys, jälkipaisto, mahdollinen etupuolen resistointi, oksidin etsaus ja resistin poisto.

- 25 Kiekkojen etsaus suoritettiin 20 m-%:ssa TMAH-liuoksessa 80°C asteen lämpötilassa. Vesikiertolämmitteisen ja höyrösuljetun etsausastian ansiosta etsauslämpötila oli tasainen koko liuoksessa ja etsin kulumisen höyrystymällä oli minimaalista. Etsausaika oli 9 tuntia. Kun etsaus oli valmis, kiekot huuhdeltiin erityisen huolellisesti kuplivassa DI-vedessä,
- 30 jotta TMAH jäämistä ei jäisi pintaan kalvoa.

Lasilevyjen lähtöaineeksi valittiin Pyrex-lasikiekot, joiden prosessointi aloitettiin asetonilla ja isopropanolipesulla. Huolellisen kuivauksen jälkeen lasikiekoille sputteroitettiin Oxford-sputterissa noin 300 nm alumiini-kerros. Sputteroinnin jälkeen alumiinikerroksen päälle

levitetty fotoresisti kuvioitiin fotolitografisesti maski 3:n läpi. Ylimääräinen alumiini poistettiin fosforihappoa sisältävässä alumiinietsissä. Tämän jälkeen pystymallin chipin inlet-aukkojen reiät porattiin lasiin. Porausta varten lasikiekko resistoitiin molemmilta puolilta ja liimattiin piikiekkoon resistillä niin, että bondattava puoli jäi ylöspäin.

- 5 Porauksessa käytettiin 0,8 mm timanttipinnoitettua kovametalliterää ja DI-vesijähdytystä. Porauksen jälkeen kiekot irrotettiin toisistaan asetonipesulla ultraäänialtaassa.

- Viimeisenä työvaiheena oli prosessoitujen pii- ja lasikiekkojen liittäminen toisiinsa anodisella bondauksella. Bondaukseen käytettiin bonderityyppiä, joka koostui  
10 bondauskammioista, ohjausyksiköstä sekä mekaanisesta vakuumpumpusta. Bondauskammio sisälsi kuumentimet kiekon ylä- ja alapuolella, yhteensä neljä lämpötilaa mittaavaa anturia, paineanturin sekä paineilamalla toimivan puristimen. Ohjausyksiköstä käsin voitiin säätää kammion lämpötilaa, painetta, puristusta sekä kiekkopaketin yli olevaa jännitettä/virtaa.

15

Bondauksen jälkeen suoritettiin chippisahaus. Kontaktibädit voitiin paljastaa sahauksen jälkeen rajapinnasta taittamalla ohut piiliuska niiden päältä pois. Lopuksi chippeihin liimattiin epoksiliimalla fluidistiikaliittimet.

- 20 Mikroletkujen liittämistä varten chippeihin liimattiin epoksi-liimalla inlet-liittimet. Kaupallisia inlet-liittimiä käyttämällä kapillaarit voitiin kiinnittää chippeihin ruuvaamalla, jolloin saatiin tiivis ja helposti irroitettava liitos. Neste- ja kaasukapillaarien ulkohalkaisija oli 360 µm ja sisähalkaisija 150 µm.

- 25 Mikrokanavistojen toimintaa päätettiin tarkastella mikroskooppiin liitetyn videokameran avulla. Lämmitettyyn chippiin kytkettiin typpi virtaus ja testinäytettä syötettiin ruiskupumpulla mikrokanavistoon. Testinäytteenä toimi metanoliin liuotettu fluoresiini, joka viritettiin xenon-lampun avulla hohtavaksi. Nesteen virtausnopeus pidettiin mittauksen aikana muutaman µl/min tuntumassa. Menetelmän avulla mikrokanaviston  
30 toimintaa voitiin visualisoida eri kaasun ja nesteen virtausnopeuksilla. Nestekanavan päähän muodostuvien mikropisaroiden irtoamisfrekvenssin havaittiin riippuvan paljon kaasun virtausnopeudesta. Mittauksen aikana käytetyn kaasun syöttöpaine oli suurimmillaan useita baareja, mutta todellisen virtausnopeuden arviointi oli vaikeaa. Jos kuumennus kytkettiin päälle, pisara höyrystyi nestekanavan päästä nopeasti.

Massaspektrometriin liittämistä varten teetettiin tefloniset alustat sekä vaaka- että pystymallin chipeille.

- 5 Testimittauksia varten chippi kytkettiin PE Sciex Instruments:in valmistamaan API 300 -sarjan massaspektrometriin.

- 10 Korkeajännitelähteenä toimi massaspektrometrin oma 8 kV lähde. Lämmittimen virtalähteenä käytettiin akkuja (12 V tai 24 V). Lämmittimen läpi kulkevaa virtaa mitattiin yleismittarilla. Näyteliuoksen pumppaukseen käytettiin erillistä virtauspumppua, jolla virtausta voitiin säätää  $\mu\text{l}/\text{min}$  tasolla. Sumutuskaasun syötössä hyödynnettiin kaasusta riippuen massaspektrometrin omaa tai erillistä kaasunsyöttöjärjestelmää.

- 15 Testiliuoksina käytettiin metanoliin liotettua midatzolaamia ( $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClFN}_3$ ,  $M=325.8$ ) ja pyridiiniä ( $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ ,  $M=79.1$ ). Midatzolaami on lääkeaine, jolla on erittäin suuri protoniaffiniteetti. Myös pyridiinillä on korkea protoniaffiniteetti ja lisäksi sillä on alhainen kiehumispiste ( $115^\circ\text{C}$ ).

- 20 Mittaukset tehtiin ns. "heated nebulizer" -moodissa ja ne päätettiin aloittaa massaspektrometrin omaa koronapurkausneulaa käyttämällä. Sumutuskaasuna käytettiin alussa ilmaa, koska sen virtausta pystyi säätämään massaspektrometrin kontrollointiohjelmalla. Vaakamallin testaus aloitettiin pelkällä liuottimella (metanolilla). Käytetyt perusparametrit on esitetty alla:

- 25
  - Näytteen virtausnopeus:  $1 \mu\text{l}/\text{min}$
  - Sumutuskaasun virtausnopeus:  $1,04 \text{ l}/\text{min}$  (teoreettinen asetusarvo)
  - Verhokaasun virtausnopeus:  $0,95 \text{ l}/\text{min}$
  - Koronapurkausvirta:  $0,1 \mu\text{A}$
  - Lämmittimen jännite:  $12/24 \text{ V}$  (vastaa vaakamallissa noin  $70^\circ\text{C}/195^\circ\text{C}$  lämpötilaa)
- 30
  - Muut arvot mittausohjelman oletusarvoja

Pelkällä metanolilla saatiin selvä signaali. Sitten kokeiltiin pyridiiniä pitoisuudella  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  ja saatiin heikko signaali. Parempi signaali saatiin  $1 \text{ mg}/\text{ml}$  midatsolaamilla. Kun sumutuskaasuksi vaihdettiin tyyppi, taustan häiriösignaalit vähenivät huomattavasti.

- Sumutuskaasun ja verhokaasun virtauksilla ei sen sijaan ollut suurta vaikutusta. Vain aivan pienillä (sumu: 0,03-0,41 l/min, verho: 0-0,44 l/min) ja suurilla (sumu: 1,49-1,58 l/min, verho: 1,58-1,84 l/min) arvoilla oli vaikutusta. Pienillä verhokaasun virtauksilla taustakohina lisääntyi ja suurella näytteen intensiteetti laski. Sumutuskaasun virtauksen vaikutus oli riippuvainen näytteen virtausnopeudesta. Suurilla näytteen virtausnopeuksilla (10-100 µl/min) sumutuskaasun vähentämisellä ei ollut juuri vaikutusta piikin intensiteettiin. Pienillä virtausnopeuksilla (<10 µl/min) intensiteetti parani sumutus-kaasuvirtauksen noustessa.
- 10 Lämpötila valitaan sellaiseksi, että saadaan tutkittava aine riittävän hyvin höyrystymään ilman, että yhdiste ei pilkkoutuisi liikaa.
- 15 Laitteen toiminnan parantamiseksi piisubstraatti voidaan eristää sähköisesti elektrodineulasta. Tämä voidaan tehdä esim. kasvattamalla PECVD:llä lasikiekolle metallikuvionin päälle eristävä oksidi- tai nitridikerros. On myös mahdollista kuvioda planaarin neula lasikiekkon päälle kiekkobondauksen jälkeen. Chippi voidaan myös valmistaa kokonaan eristävästä materiaalista.
- 20 Mikroneulan planaarisuudella saavutetaan merkittävä etu valmistusprosessin yksinkertaisuutta ajatellen; kolmiulotteinen neula on vaikeammin valmistettava. Kuviossa 4 on esitetty kaksi modifioitua chippikonfiguraatiota (lasi 31; 41, pii 32; 42) planaarisella neulalla 33; 43. Laitteosat ovat samat kuin kuviossa 3a. Kuten kuvio 4 käy ilmi, neula voi sijaita suoraa höyrystymien poistoaukon edessä, yhdensuuntaisena kapillaarin kanssa,
- 25 tai se voidaan ohjata viistosti sivulta poistoaukon eteen. Lasi- ja piikiekolle 51, 52 rakennetun kolmiulotteisen mikroneulan 53 (ks. kuvio 5, laiteosat muuten samat kuin kuviossa 3a) valmistukseen voitaisiin käyttää esim. kalvojännityksien johdosta taipuvia neuloja, metalloituihin polymeereihin perustuvia rakenteita, bondattuihin metallilankoihin tai mikromekaanisesti ylösnostettaviin ratkaisuihin perustuvia neuloja tai
- 30 sähkökemiallisesti teroitettua metallilankaa, esimerkiksi platinalankaa.



**Patenttivaatimukset:**

1. Menetelmä näytteen tutkimiseksi massaspektrometrisesti, jonka menetelmän mukaan
- tutkittavaa näytettä sisältävä liuos höyrystetään höyrystimessä,
  - 5 – höyrystetty näyteliuos suihkutetaan kaasuvirtauksen avulla koronapurkausvyöhykkeeseen, jossa tutkittava näyte ionisoidaan koronapurkauksen avulla kaasufaasi-ionien tuottamiseksi, ja
  - ionit erotellaan ja ohjataan detektoriin,
- t u n n e t t u siitä, että
- 10 – käytetään höyrystintä, joka on toteutettu mikromekaanisena rakenteena.
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetään höyrystintä, joka käsittää liuoksen ja sen syöttämiseen mahdollisesti käytettävän kantajakaasun virtauskanavistot sekä höyrystimen kuumentimen, jotka on sisällytetty
- 15 monoliittiseen rakenteeseen.
3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että virtauskanavistot on mitoitettu sellaisiksi, että niiden läpi kulkeva nestevirta on suuruudeltaan alle 100  $\mu\text{l}/\text{min}$ , sopivimmin alle 10  $\mu\text{l}/\text{min}$ .
- 20 4. Patenttivaatimuksen 2 tai 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetään höyrystintä, joka sisältää höyrystysvyöhykkeen ja koronapurkausvyöhykkeen, jotka on integroitu yhteen mikromekaaniseen rakenteeseen.
- 25 5. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetään mikromekaanista rakennetta, joka käsittää yhdelle tai usemmalle kiekolle prosessoidut virtauskanavistot ja kuumentimen.
6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetään
- 30 rakennetta, joka käsittää
- substraattikiekon, johon on muodostettu kaasujen ja nesteen virtauskanavistot, ja
  - substraattikiekkoon kiinnitetyn kansikiekon, johon on kuvioitu näyteliuoksen höyrystämiseen käytettävä kuumennin.

7. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että höyrystetty näyteliuos ionisoidaan koronapurkauksella ilman läsnä ollessa normaali-ilmanpaineessa.

5

8. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että koronapurkausvyöhyke käsittää neulamaisen elektrodin, joka on kytketty niin korkeaan potentiaaliin suhteessa massaspektrometrin verholevyyn, että sähkökentän voimakkuus ainakin elektrodin kärjen välittömässä läheisyydessä ylittää ilman koronapurkaus-

10 kynnyksen.

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että neulamaisen elektrodin potentiaali suhteessa verholevyyn on ainakin 1 kV ja maksimisähkökenttä elektrodin kärjen tuntumassa on noin 50 kV/mm.

15

10. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että tutkitaan polaarisia yhdisteitä, polaarittomia yhdisteitä, neutraaleja yhdisteitä tai ioniyhdisteille, jolloin tutkittava näyte liuotetaan eluettina käytettävään polaariseen tai polaarittomaan liuottimeen näyteliuoksen tuottamiseksi.

20

11. Patenttivaatimuksen 10 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että tutkitaan yhdisteitä, joiden moolimassat ovat korkeintaan 2000 Da, sopivimmin korkeintaan 1000 Da.

25

12. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että tutkittavan näytteen nestevirtaus asetetaan arvoon, joka on pienempi kuin noin <10 µl/min ja sen syöttämiseen käytettävän kantajakaasun virtaus asetetaan arvoon, joka on ainakin noin 50 µl/min.

30

13. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että näyte ionisoidaan Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI) -menetelmällä.

14. Laitteisto näytteen tutkimiseksi massaspektrometrisesti, joka laitteisto käsittää

– höyrystimen tutkittavaa näytettä sisältävän liuoksen höyrystämiseksi,

- höyrystimeen yhdistetyn koronapurkauslaitteen, jossa tutkittava näyte ionisoidaan Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI) -menetelmän mukaisesti varattujen partikkelien tuottamiseksi,
- koronapurkauslaitteeseen liitetyn detektoriin varattujen partikkelien ilmaisemiseksi,
- 5        sekä
- osat varattujen partikkelien ohjaamiseksi sähkö- ja/tai magneettikenttien avulla koronapurkauslaitteesta detektoriin,

t u n n e t t u siitä, että

- höyrystin on toteutettu mikromekaanisena rakenteena.

10

15. Patenttivaatimuksen 14 mukainen laitteisto, t u n n e t t u siitä, että höyrystin käsittää liuoksen ja sen syöttämiseen mahdollisesti käytettävän kantajakaasun virtauskanavistot sekä höyrystimen kuumentimen, jotka on sisällytetty monoliittiseen rakenteeseen.

- 15    16. Patenttivaatimuksen 15 mukainen laitteisto, t u n n e t t u siitä, että virtauskanavistot on mitoitettu sellaisiksi, että niiden läpi kulkeva nestevirta on suuruudeltaan alle 100  $\mu\text{l}/\text{min}$ , sopivimmin alle 10  $\mu\text{l}/\text{min}$ .

- 20    17. Patenttivaatimuksen 15 tai 16 mukainen laitteisto, t u n n e t t u siitä, että höyrystin sisältää höyrystysvyöhykkeen ja koronapurkausvyöhykkeen, jotka on integroitu yhteen mikromekaaniseen rakenteeseen yhdistetyn höyrystimen ja koronapurkauslaitteen muodostamiseksi.

- 25    18. Jonkin patenttivaatimuksen 14 – 17 mukainen laitteisto, t u n n e t t u siitä, että se käsittää monoliittisen kappaleen, joka on muodostettu kahdesta tai useammasta kappaleesta, jotka on liitetty toisiinsa.

- 30    19. Patenttivaatimuksen 18 mukainen laitteisto, t u n n e t t u siitä, että kappale käsittää piikiekon, johon on muodostettu kaasujen ja nesteen virtauskanavistot, ja lasilevyn, johon on muodostettu näyteliuoksen höyrystämiseen käytettävä kuumennin.

20. Patenttivaatimuksen 18 mukainen laitteisto, t u n n e t t u siitä, että kappale käsittää lasilevyn, johon on muodostettu kaasujen ja nesteen virtauskanavistot, ja piikiekon, johon on muodostettu näyteliuoksen höyrystämiseen käytettävä kuumennin.

- 5 21. Jonkin patenttivaatimuksen 14 – 20 mukainen laitteisto, t u n n e t t u siitä, että koronapurkauslaite käsittää neulamaisen elektrodin, joka on kytketty niin korkeaan potentiaaliin suhteessa massaspektrometrin verholevyyn, että sähkökentän voimakkuus ainakin elektrodin kärjen välittömässä läheisyydessä ylittää ilman koronapurkauskynnyksen.

10

22. Patenttivaatimuksen 21 mukainen laitteisto, t u n n e t t u siitä, että neulamaisen elektrodin potentiaali suhteessa verholevyyn on asetettavissa arvoon, joka on ainakin 1 kV, ja elektrodin kärjen tuntumassa olevan maksimisähkökentän arvoksi on asetettavissa ainakin noin 50 kV/mm.

15

23. Mikromekaanisen rakenteena toteutetun höyrystimen käyttö Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI) –ionisaatioon syötettävän, höyrystetyn näytteen tuottamiseen.

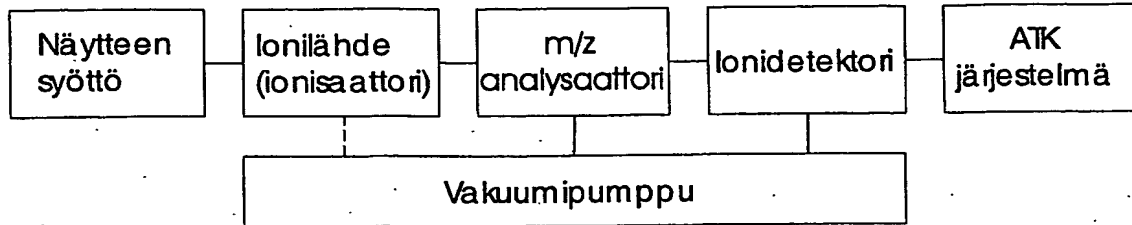
- 20 24. Patenttivaatimuksen 23 mukainen käyttö, t u n n e t t u siitä, että käytetään höyrystintä, joka käsittää monoliittisen kappaleen, johon on muodostettu ainakin tutkittavan näytteen ja sen syöttömiseen mahdollisesti käytettävän kantajakaasun virtauskanavistot sekä näytteen höyrystämiseen käytettävä kuumennin, jolloin nesteen virtauskanavistot on mitoitettu sellaisiksi, että niiden läpi kulkeva virta on suuruudeltaan alle 100 µl/min.

25

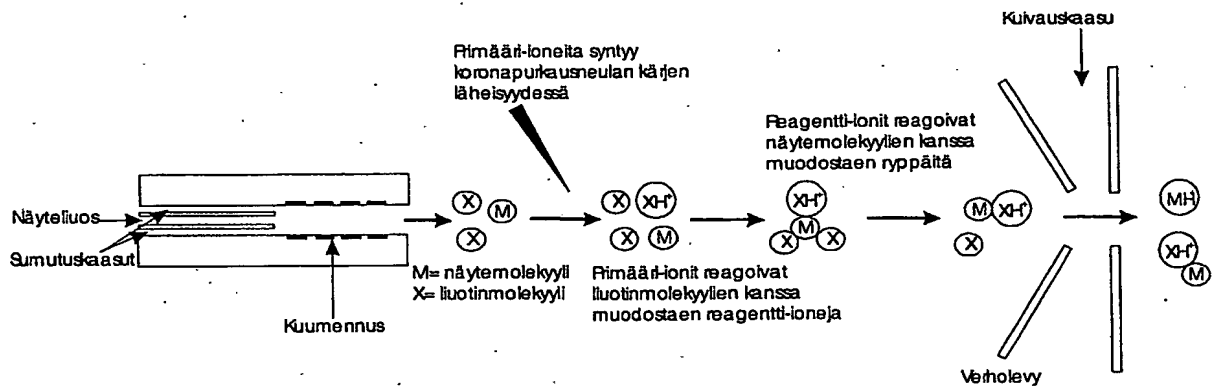
25. Patenttivaatimuksen 24 mukainen käyttö, t u n n e t t u siitä, että höyrystintä käytetään sellaisen näytteen tutkimiseen, jonka moolimassa on korkeintaan noin 2000 Da.

## (57) Tiivistelmä:

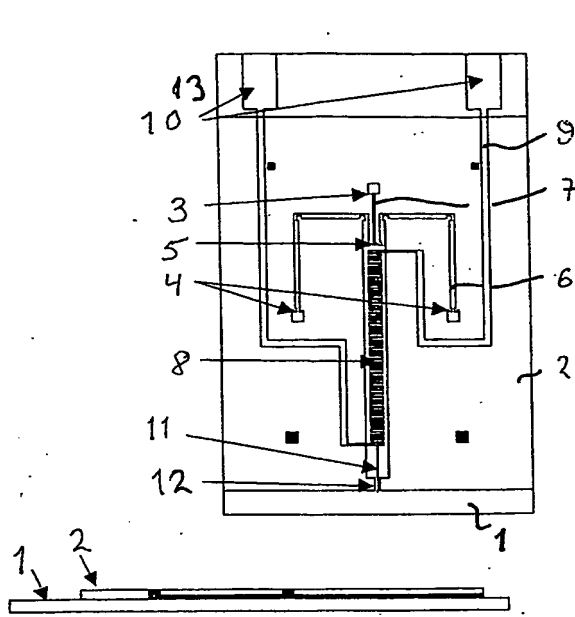
Menetelmä ja laitteisto näytteen tutkimiseksi massa-spektrometrisesti. Menetelmän mukaan tutkittavaa näytettä sisältävä liuos höyrystetään höyrystimessä, höyrystetty näyteliuos suihkutetaan kaasuvirtauksen avulla koronapurkausvyöhykkeeseen, jossa tutkittava näyte ionisoidaan APCI-menetelmän mukaisesti koronapurkauksen avulla kaasufaasi-ionien tuottamiseksi, ja ionit erotellaan ja ohjataan detektoriin. Keksinnön mukaan käytetään höyrystintä, joka on toteutettu mikromekaanisena rakenteena, joka käsittää liuoksen ja sen syöttämiseen mahdollisesti käytettävän kantajakaasun virtauskanavistot sekä höyrystimen kuumentimen, jotka on sisällytetty monoliittiseen rakenteeseen. Ratkaisu sopii erityisen hyvin tapauksiin, jossa tarvitaan suuren herkkyyden omaavaa analyysitekniikkaa tai jossa käytössä olevan näytteen määrä on erittäin pieni (pienempi kuin 1  $\mu\text{L}$ ).



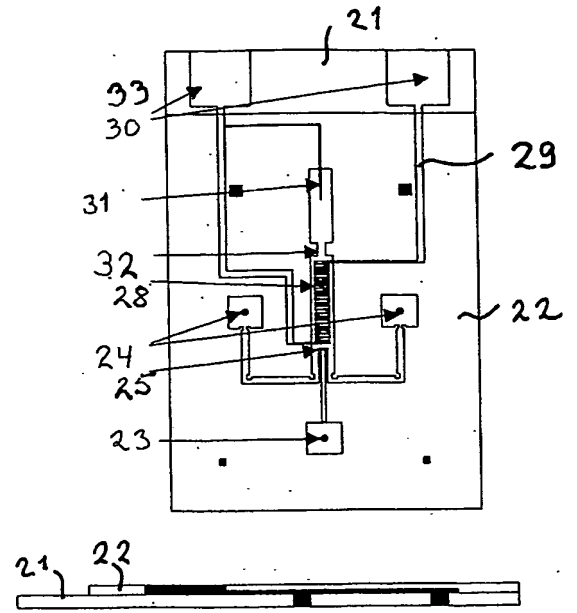
Kuvio 1. Massaspektrometrilaitteiston osakokonaisuudet.



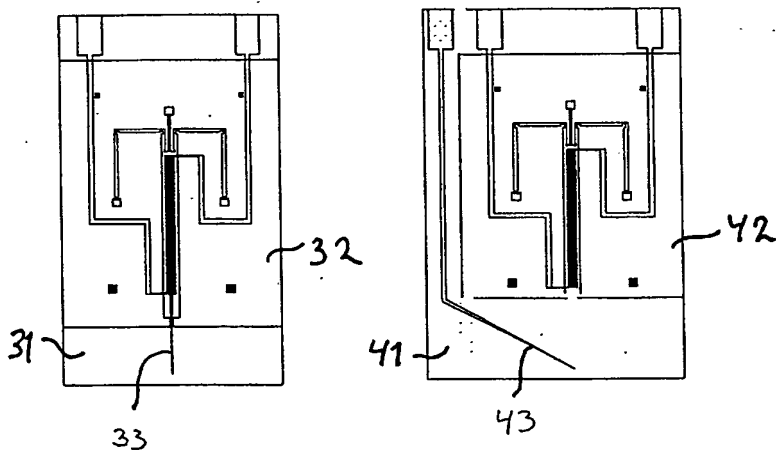
Kuvio 2. APCI-ionisaation periaate



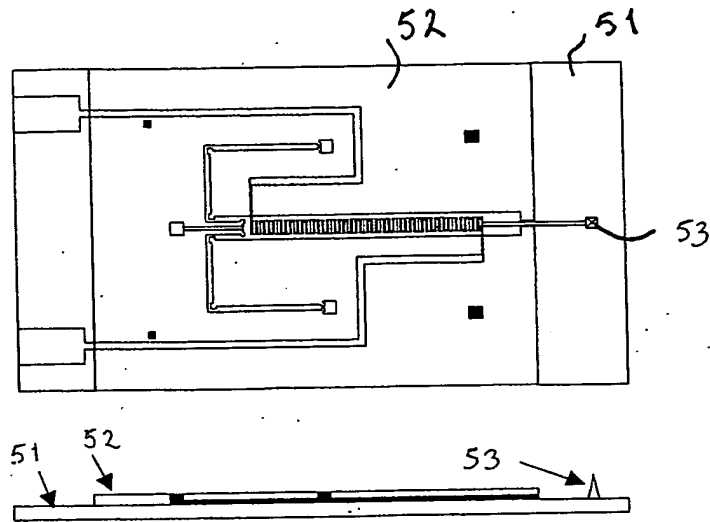
Kuvio 3a. Vaakamallisen  $\mu$ -APCI-ioni-lähteen rakenne



Kuvio 3b. Pystymallisen  $\mu$ -APCI-ioni-lähteen rakenne



Kuvio 4. Modifioituja chippikonfiguraatioita planaarisella neulalla.



Kuvio 5. Chippikonfiguraatio kolmiulotteisella mikroneulalla



# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/FI04/000683

International filing date: 15 November 2004 (15.11.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: FI  
Number: 20031658  
Filing date: 14 November 2003 (14.11.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 04 February 2005 (04.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**